

Lysosomeからみた閉塞性黄疸肝の病態について

著者	高木 靖
号	848
発行年	1974
URL	http://hdl.handle.net/10097/19129

氏 名（本籍） たか ぎ やすし
高 木 靖

学位の種類 医学博士

学 位 記 番 号 医 第 8 4 8 号

学位授与年月日 昭和 49 年 2 月 20 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最 終 学 歴 昭和42年3月24日
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 Lysosome からみた閉塞性黄疸肝の病態につ
いて

(主 查)

論文審査委員 教授 佐藤 寿雄 教授 山形 徹一

教授 葛 西 森 夫

論文内容要旨

I 目的：閉塞性黄疸における肝障害の病態究明の一環として，閉塞性黄疸ラットの肝および血清 β -glucuronidase 活性 (B-G) を測定し，さらに Lysosome 画分 (L.-fr.) の B-G をも測定して，閉塞性黄疸肝の Lysosome 膜の脆弱性を検討した。又，肝実質障害モデルとしての急性 CCl_4 障害肝についても同様に検索し，光顕および電顕的観察も加味して肝病態から見た閉塞性黄疸肝の位置づけを試みた。

II 実験材料および方法：200 g 前後の Wistar 系ラットをエーテル麻酔下に総胆管を結紮切離して閉塞性黄疸ラットを作成し，3日後とその後は各週毎に6週後まで血液，肝を採取した。急性 CCl_4 肝障害ラットは20% CCl_4 オリーブ溶液 1 ml / 100 g 体重を皮下，腹腔内に半量ずつ投下し，48時間後に採血，採肝した。血液は，直ちに2,500 rpm 5分間遠心して血清を用い，肝は0~4℃の cold room 内で，冷した 0.25 M Sucrose + 1mM EDTA にて 10% homogenate を作成し，その一部は2.5%に希釈して0.2% Triton X-100 を加え 37℃，60分間 shaking incubate 後に肝全 homogenate とした。残りの10% homogenate は，1,000 g 10分，上清を7,000 g 10分後さらにその上清を20,000 g 20分間冷却遠心し，pellet を前記 sucrose 液にて suspend したものを L.-fr. として試料にした。B-G は P-nitrophenylglucuronide を基質として試料と共に一定時間 incubate し，遊離された P-nitrophenol (PNP) 量をもって B-G とした。Lysosome の脆弱性は，L.-fr. を 0.2% Triton X-100 処理活性と同非処理活性との比を%で表わした。

III 実験成績：(1) 血清 B-G 活性 (単位は遊離 PNP $\mu\text{g/hr}$)；対照群 1.23 ± 0.36 に対し，閉塞性黄疸群では3日ですでに 3.25 ± 0.25 と約2.5倍に上昇，1週後で 3.23 ± 1.36 2週後 5.89 ± 0.99 と漸増して，3週後には5倍以上の 6.92 ± 1.53 と最高に達した。しかし4週には 4.64 ± 1.34 ，6週には 4.19 ± 1.38 と下降した。一方 CCl_4 投与群は 3.75 ± 0.89 と対照群の約3倍値であるが6週群よりさらに低値であった。(2) 肝全 homogenate B-G 活性 (単位は遊離 PNP, $\times 10^{-3} \mu\text{g}/\mu\text{g}$ 蛋白/15分)；対照群 17.77 ± 1.49 に比し胆道閉塞3日で 19.82 ± 1.01 ，1週 22.70 ± 2.41 ，2週群 22.79 ± 4.16 ，3週群では 23.17 ± 3.49 と黄疸持続に従って増大する傾向を示し，4週で 28.77 ± 3.82 と対照の約1.6倍となるが，6週群になると 25.01 ± 8.38 と3週群と同程度に戻る。 CCl_4 投与群は 24.96 ± 7.86 と1~3週群および6週群と同程度であった。(3) L.-fr. B-G 活性；まず0.2% Triton X-100 処理によるいわゆる total activity (単位は遊離 PNP, $\times 10^{-3} \mu\text{g}/\mu\text{g}$ 蛋白/30分) をみると対照群値 9.067 ± 14.30 が黄疸持続期間延長と共に低下し，1週 89.67 ± 10.55 ，2週 77.79 ± 12.86 ，3週群では 66.20 ± 17.06 と約73%に低下し，その後4週で $70.04 \pm$

11.74とやや増大するが6週では再び 62.17 ± 6.64 と70%以下に低下する。CCl₄投与群は 80.13 ± 2.75 と黄疸4週群程度に低下していた。これを肝1gあたりでみると対照の 7.68 ± 2.32 (mg/g肝)が3日で 5.89 ± 0.65 , 1週 5.91 ± 1.20 , 2週 4.62 ± 1.10 , 3週 4.38 ± 1.56 , 4週 4.06 ± 1.20 と漸減し, 6週になると 3.96 ± 0.78 と約1/2にまで著減した。次にL-fr.の脆弱性(%)をみると対照群 22.40 ± 4.95 に対し黄疸3日群で 33.67 ± 4.01 , 1週 54.06 ± 16.63 と約2.5倍に急増したが2週 52.80 ± 12.00 , 3週 54.98 ± 10.65 , 4週 54.88 ± 15.64 と同程度を維持した。しかし6週では 29.69 ± 7.50 とむしろ正常化する如き傾向を示した。一方CCl₄投与群は 49.80 ± 9.03 と黄疸1~4週群と同程度の増大に留まった。(4)蛋白量($\mu\text{g}/0.1\text{ml}$): 肝全homogenateでは胆道閉塞3日で 502.96 ± 72.78 から 737.56 ± 44.35 と減少し, その後は4週群まで同程度であるが6週には 392.17 ± 44.75 とさらに減少した。CCl₄投与群も 422.90 ± 59.08 と減少した。L-fr.は対照群 346.12 ± 56.55 に対し黄疸3日群で 244.27 ± 10.94 と著減, その後6週群の 253.96 ± 40.26 まで同程度を維持し, CCl₄投与群も 286.05 ± 27.04 と減少した。(5)組織学的検索;胆道閉塞1週で全例軽度の胆管増生, 細胞浸潤が認められ, 2週以後次第に著明となり門脈域の線維化と胆管周囲や小葉内胆汁うっ滞が見られた。6週群ではさらにこの変化が強くなり胆汁性肝硬変像を呈するものもあった。電顕では, Lysosomeは閉塞期間延長につれて3週, 4週頃まで漸増し, 6週になると減少する印象をうけた。CCl₄投与群は肝実質の著明な壊死を認め, 肝実質量の減少が明らかで脂肪変性が広範に認められるものが多かった。(6)肝機能検査;胆道閉塞1週で総ビリルビン, G.O.T., A1-P.は上昇するが, 以後著変なく6週群ではやや低下する傾向も見られた。G.O.T.には著変をみなかった。CCl₄投与群ではG.O.T., G.P.T., A1-P.が著しい高値を示したが黄疸は認められなかった。

Ⅳ 結語: ①ラット閉塞性黄疸における血清B-Gは, 閉塞期間延長と共に次第に上昇して3週後に最高に達する。しかし4週および6週群やCCl₄投与群では逆に低下してくるが, 正常レベルまでは復さなかった。②肝homogenateのB-Gは閉塞期間延長と共に上昇する。CCl₄投与群も同様な傾向を示した。③L-fr.のtotal B-Gは閉塞期間延長につれて次第に低下する傾向があり, CCl₄投与群にも低下が認められた。④L-fr.の脆弱性は胆道閉塞後すでに3日目で増大し, 以後は4週までそれを維持し, 6週後になるとむしろ低下して対照群と有意差がなくなる。これは強固なLysosomeのみがこの時期まで残存するためではないかと推察された。CCl₄投与群も4週群程度に留まっており, 結局, 脆弱性はある程度以上は増大しないと思われた。⑤以上の成績を総合して考えると, ラットでは胆道閉塞4週目以後の黄疸肝の障害程度はCCl₄障害肝に匹敵し, これは上昇した血清B-Gが再び下降する時期に一致している。又, この時期は胆汁性肝硬変期にも相当しており, これはB-Gに線維化抑制作用のあることから, この抑制作用の疲憊をも意味し, 黄疸肝の肝障害が重篤であることを示している。

審 査 結 果 の 要 旨

閉塞性黄疸は術後合併症が頻発し、死亡率も高いにもかかわらず、その肝障害の本能に関しては明確にされておらず外科臨床上問題の多い疾患である。

本研究はその肝病態究明の一環として主としてライソゾームおよびその酵素活性の動態を検討したものである。すなわちラット総胆管結紮切離後3日、1～6週の各時期に屠殺して採血採肝して血清、肝ホモジェネートおよび肝ライソゾーム画分について β -グルクロニダーゼ活性(B-G)を測定して次のような成績を得ている。まず血清B-Gは胆管閉塞期間の延長と共に増加するが3週目をピークとして以後はむしろ低下する。肝ホモジェネートでも経過的にB-Gの上昇がみられ、6週目では軽度低下したが、ライソゾーム画分B-Gは持続的に低下している。また今回規定したライソゾームの脆弱性は胆管閉塞によって急激に増大し、1週目で約2倍となって以後その値を持続するが6週目でやや低下している。また黄疸肝に加えて、CCl₄急性障害肝についても同様に検索して黄疸肝の成績と比較検討し次のごとき考察を行なっている。すなわち胆管閉塞によってライソゾーム酵素はinduceされて肝内に増加するとともにライソゾームの脆弱性が亢進して酵素は血中に逸脱する。しかし胆管閉塞が長期に亘ると酵素活性が低下するが、これは黄疸肝においてもCCl₄障害肝と同様に肝細胞の障害により酵素産生能が低下して、非可逆的肝障害に陥るものと推定している。また、6週目にはそれまで亢進していたライソゾームの脆弱性が低下するのは、この時期まで残存し得たライソゾームは強固なもののみであるため脆弱性が回復したかの印象をうけるものと説明している。また、ライソゾーム酵素は肝線維化抑制作用があるとされているが、本研究でも増加していたライソゾーム酵素活性の低下が組織学的に胆汁性肝硬変となる時期に一致して生じていることが明確にされている。

従来閉塞性黄疸肝においてライソゾーム酵素がinduceされることは指摘されていたが、本研究のごとく6週間以上の長期に亘り血清、肝ホモジェネートおよびライソゾーム画分について同時に検討した報告はない。さらにこの検索によって一度上昇していたライソゾーム酵素活性が低下する時点が肝障害の非可逆化を意味すること、また血清ライソゾーム酵素の継続的検索によって閉塞性黄疸肝の病態の推移を予測し得ることなどの注目すべき知見を得ている。

以上の如く本研究は閉塞性黄疸肝における病態の解明に貢献するのみならず、閉塞性黄疸の外科臨床に有力な治療指針を提示したものである。

よって本研究は医学博士の学位を授与するに値するものと認める。